

*COLLÈGE NATIONAL
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIENS FRANÇAIS
Président : Professeur J. Lansac*

**Extrait des
Mises à jour
en Gynécologie
Médicale**

—

**Volume 2008
publié le 3.12.2008**



*TRENTE-DEUXIÈMES JOURNÉES NATIONALES
Paris, 2008*

Préservation de la fertilité des patientes présentant un cancer du sein

C. POIROT ^{1, 2}, G. LEFEBVRE ³
(Paris)

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez les femmes de moins de 40 ans. La chimiothérapie adjuvante a permis de diminuer de façon significative les taux de rechute des cancers du sein, surtout chez la femme jeune [1], et d'augmenter leur survie, mais ces traitements ne sont pas sans avoir de conséquences à plus ou moins long terme. La qualité de la survie est influencée par les effets secondaires persistants des thérapeutiques qu'il est important de gérer au mieux. Parmi ces effets secondaires à long terme, ceux sur la fonction gonadique sont connus. Actuellement, il est essentiel de s'interroger et, éventuellement, de proposer des techniques de préservation de la fertilité à ces patientes. En effet, depuis un peu plus d'une décennie, les techniques de préservation de la fertilité sont de plus en plus utilisées pour les patientes devant subir des traitements gonadotoxiques. Il s'agit d'un domaine d'investigation récent et prometteur, mais où certaines techniques sont encore expérimentales.

1 - Praticien hospitalier - APHP - UF de Biologie de la Reproduction - Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière - 83 boulevard de l'Hôpital - 75013 Paris

2 - Praticien hospitalier APHP - Service de Gynécologie Obstétrique - Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière - 83 boulevard de l'Hôpital - 75013 Paris

3 - Professeur des Universités - UPMC Université Paris 06 - EA 1533 - 75005 Paris

L'IMPACT DES TRAITEMENTS SUR LA FONCTION OVARIENNE

Parmi les molécules utilisées dans le traitement des cancers du sein, le cyclophosphamide, agent alkylant, est celle qui est le plus toxique pour la fonction ovarienne. En effet, les agents alkylants peuvent entraîner une insuffisance ovarienne secondaire se manifestant soit de façon différée par une insuffisance ovarienne précoce, soit de façon précoce et définitive dès la fin du traitement. Ces atteintes sont donc responsables de troubles de la reproduction.

Les ovaires contiennent un nombre défini d'ovocytes donc de follicules, qui ne fait que décroître tout au long de la vie. Les ovaires avant la ménopause contiennent d'une part les follicules primordiaux qui constituent la réserve ovarienne, et les follicules en maturation (primaires, secondaires et à antrum). Le cyclophosphamide est délétère pour la fertilité, d'une part en endommageant les follicules ovariens de réserve, et d'autre part en inhibant la maturation folliculaire. L'aménorrhée post-chimiothérapique réversible est le reflet de la destruction des follicules en maturation. L'aménorrhée permanente ou l'insuffisance ovarienne précoce est le résultat de la destruction des follicules primordiaux de la réserve.

La dose cumulative totale du traitement est un élément clé de même que l'âge de la patiente.

La dose totale de cyclophosphamide pour induire une aménorrhée définitive est de l'ordre de 20,4 g pour une femme de 20 ans, 9,3 g à 30 ans et 5,2 g à 40 ans [2]. Pour 6 cycles FEC, le risque de dommage permanent ovarien peut être estimé comme élevé ($> 80\%$) pour les femmes de plus de 40 ans, comme intermédiaire pour les femmes de 30 à 39 ans, et comme bas ($< 20\%$) pour les femmes de moins de 30 ans [3].

En résumé, à la fin d'une chimiothérapie à base d'agents alkylants, la destruction des follicules primordiaux et des follicules en maturation se manifeste soit par une conservation temporaire des règles, ou une aménorrhée réversible, ou des cycles irréguliers, ou une aménorrhée irréversible en fonction du degré d'atteinte folliculaire et de la réserve folliculaire de chaque femme [4].

COMMENT PRÉSERVER LA FERTILITÉ DES PATIENTES ATTEINTES DE CANCER DU SEIN ?

Quatre méthodes principales peuvent être proposées : la prescription d'analogues de la GnRH, la cryoconservation d'ovocytes matures, d'embryons ou de cortex ovarien.

1 - Les analogues du GnRH

Les analogues de la GnRH suppriment de façon réversible l'axe hypothalamo-hypophysio-ovarien. L'objectif théorique de leur utilisation chez des patientes pubères traitées par chimiothérapie est de stopper le recrutement des follicules ovariens quiescents vers le pool de follicules en maturation, potentiellement plus sensibles à la chimiothérapie. Ils ont été proposés aussi pour les patientes souffrant de cancer du sein. Pour exemple, une étude italienne portant sur 29 patientes traitées par FEC (cyclophosphamide, épirubicine, 5-fluoro-uracile) associé à un agoniste de la GnRH, retrouve un taux de retour de règles de 94 % chez les femmes de moins de 40 ans et de 42 % pour les femmes de 40 ans et plus [5]. Une autre étude, plus récente, va dans le même sens. Elle a porté sur une population de 50 patientes d'âge moyen de 34 ans (20-43), recevant des doses totales moyennes de cyclophosphamide de 3,9 g, associé à un agoniste de la GnRH ; pour 90 % d'entre elles un retour des règles a été observé [6]. Les agonistes de la GnRH ont comme avantage d'être commercialisés, faciles d'utilisation, d'un coût raisonnable, rapides à mettre en œuvre mais/et avec des effets secondaires connus et les résultats des publications sont parfois contradictoires.

2 - La fécondation in vitro en vue d'une cryoconservation embryonnaire

La première grossesse après congélation-décongélation embryonnaire a été obtenue en 1983 par l'équipe australienne de Trounson [7]. Les taux de grossesses sont de l'ordre de 18 % (bilan FIVNAT, 2006). En accord avec « l'arrêté du 11 avril 2008 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques d'assistance médicale à la procréation », cette technique « peut être aussi proposée... avant traitement potentiellement stérilisant dans le cadre de la préservation de la fertilité ».

Néanmoins, elle est réservée aux femmes mariées ou en mesure d'apporter la preuve d'une vie commune d'au moins deux ans. En pratique, elle nécessite une stimulation de l'ovulation afin d'obtenir plusieurs embryons.

Dans le cas du cancer du sein, la stimulation de l'ovulation entraîne une hyperœstrogénie qui peut être délétère. Des alternatives à la stimulation de l'ovulation standard ont été proposées, notamment l'utilisation des antiœstrogènes. Il a été montré que le Tamoxifen, associé ou non à de la FSH en vue d'une FIV en vue de congélation embryonnaire, permet de recueillir un nombre moyen d'ovocytes de $1,5 \pm 0,3$ avec une stimulation avec du Tamoxifen seul et de $5,1 \pm 1,1$ quand de la FSH est donnée. Le nombre moyen d'embryons obtenus a été respectivement de $1,3 \pm 0,3$ et de $3,8 \pm 0,8$ [8].

Une autre possibilité pourrait être l'utilisation des antagonistes du GnRH. Une étude de cas de 6 patientes avec un cancer, dont 4 atteintes d'un cancer du sein, suggère l'utilisation des antagonistes du GnRH pour stimuler l'ovulation, ce qui leur a permis de congeler un nombre moyen d'embryons de 4,75 [4-6] tout en réduisant le temps de la stimulation et en permettant, ainsi, d'initier plus tôt le traitement anticancéreux [9].

Sur le plan pratique, la cryoconservation d'embryons est une méthode possible dans tous les centres d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP). Mais elle n'est pas sans poser de problèmes éthiques si le couple se sépare ou si l'un d'eux décède.

3 - La cryoconservation de l'ovocyte mature

La première naissance obtenue par fécondation in vitro d'un ovocyte préalablement congelé et décongelé a été rapportée par Chen en 1986 [10]. De 1986 à 1987, il a été décrit de très rares grossesses et accouchements après congélation d'ovocytes matures, mais les faibles taux de survie ovocytaire, de fécondation et les taux importants de polyploidie ont amené à l'arrêt presque complet de cette technique [11].

Depuis, les techniques de cryobiologie se sont améliorées, ayant permis d'améliorer les taux de survie ovocytaire et de diminuer les altérations du fuseau de division méiotique. Les techniques de micro-manipulation utilisées en assistance médicale à la procréation ont abouti à des taux de fécondation supérieurs. Ainsi en 1997, la première grossesse obtenue après congélation lente-décongélation ovocytaire et micromanipulation par ICSI (IntraCytoplasmic Sperm Injection) a été décrite par Porcu [12]. Il est rapporté, à ce jour, dans

la littérature avec ce protocole, des taux de survie ovocytaire variant de 30 à 82 % [13], des taux de fécondation de 50 à 89 % [14].

Depuis quelques années, des équipes s'intéressent à la vitrification des ovocytes, technique qui consiste à utiliser des fortes concentrations de cryoprotecteurs et une vitesse de descente jusqu'à la température de l'azote liquide (- 196°C) très élevée, évitant ainsi la formation de cristaux de glace intracellulaires pouvant léser les membranes. Des résultats très récents en termes de grossesse sont encourageants [15].

Une méta-analyse de 2006 rapporte, pour la période avant juin 2005, des taux de naissances après congélation lente par ovocyte décongelé de 1,9 %, par ovocyte microinjecté de 3,4 %, et de 21,6 % par transfert embryonnaire, et après vitrification, de 2 % par ovocyte décongelé et de 29,4 % par transfert, mais pour des effectifs réduits de 10 grossesses sur 34 transferts. Pour la vitrification, après juin 2005, l'analyse des publications montre des taux de naissances par ovocytes décongelés de 4,6 % et de 39 % (39/100) par transfert [16].

Sur le plan réglementaire, il est noté, sans équivoque dans l'arrêté du 11 avril 2008 que « la congélation d'ovocytes peut aussi être proposée en vue de préserver la fertilité ».

Mais, là aussi, pour pouvoir congeler plusieurs ovocytes, une stimulation de l'ovulation est nécessaire, avec les mêmes réserves que précédemment.

4 - La cryoconservation de cortex ovarien

La plupart des patientes atteintes de cancer n'ont pas la possibilité d'avoir recours à une stimulation de l'ovulation en vue de cryoconserver soit des embryons, soit des ovocytes matures, car elle nécessite 3 à 4 semaines de délai voire plus, et dans la plupart des maladies cancéreuses, les traitements doivent être initiés très rapidement après le diagnostic et de plus, dans le cas de cancer du sein, comme il a été dit précédemment, l'hormonosensibilité de la tumeur doit appeler à la prudence.

Il a été montré que la congélation de fragments ovariens était une technique fiable en termes de survie folliculaire dans l'espèce humaine, permettant de conserver un nombre important de follicules primordiaux. Il est donc apparu possible de proposer, depuis une dizaine d'années, une cryoconservation de cortex ovarien à des patientes devant subir un traitement stérilisant.

La cryoconservation de cortex ovarien donne aux patientes la possibilité de préserver leur fertilité en ayant recours à un prélèvement d'ovaire qui s'organise rapidement.

La réglementation

En France, le cadre réglementaire de cette activité a été fixé pour la première fois par l'arrêté du 12 janvier 1999 relatif aux règles de bonnes pratiques cliniques et biologiques en Assistance Médicale à la Procréation (article 2.6), indiquant que « les prélèvements de fragments d'ovaire en vue de conservation pour une éventuelle AMP ultérieure restent du domaine de la recherche, et doivent donc entrer dans le cadre d'un protocole de recherche et faire l'objet d'une demande à un CCPPRB ». En août 2004, la loi relative à la bioéthique mentionne qu'« en vue de la réalisation ultérieure d'une assistance médicale à la procréation, toute personne peut bénéficier du recueil et de la conservation de tissu germinale, avec son consentement et, le cas échéant, celui de l'un des titulaires de l'autorité parentale ou du tuteur, lorsque l'intéressé mineur ou majeur fait l'objet d'une mesure de tutelle, lorsqu'une prise en charge médicale est susceptible d'altérer sa fertilité, ou lorsque sa fertilité risque d'être prématurément altérée ». Cette activité est, maintenant, soumise à autorisation pour les établissements et à agrément pour les praticiens.

Les indications

Elles sont de deux types : les indications que l'on peut dénommer d'« absolues », et les autres.

Les indications « absolues »

Il est légitime de proposer une congélation de cortex ovarien dans trois situations où le risque d'altération définitive de la fonction ovarienne est quasiment certain dès la fin du traitement : les chimiothérapies comportant des agents alkylants à fortes doses comme le busulfan ou le cyclophosphamide, l'irradiation corporelle totale ou abdominale totale, et les ovariectomies bilatérales ou unilatérales sur ovaire restant [17]. Dans le cas des cancers du sein, le cyclophosphamide est largement employé.

Les autres indications

Elles recouvrent ce que la loi a mentionné par : « lorsque sa fertilité risque d'être prématurément altérée ». Ce cadre est vaste et mal défini, ce qui n'est pas sans poser de problèmes pour les prises de décisions. Il inclut vraisemblablement les pathologies identifiées comportant une

insuffisance ovarienne précoce comme le syndrome de Turner [18], mais peut-être aussi les traitements anticancéreux pas totalement stérilisants.

Aspects pratiques de la congélation de cortex ovarien

Prise de décision

L'indication de congélation de tissu ovarien est posée suite à une concertation multidisciplinaire entre l'oncologue et/ou le chimiothérapeute et/ou le radiothérapeute, le biologiste de la reproduction, le chirurgien, l'anesthésiste et toutes autres personnes pouvant aider à la prise de décision. La technique est ensuite proposée à la patiente et/ou à ses parents. Il est clairement expliqué à la patiente le protocole de congélation, de conservation et les incertitudes d'utilisation du tissu ovarien. Si après une information claire et exhaustive la patiente accepte, elle signe un consentement.

Le prélèvement de tissu ovarien

Il se fait par cœlioscopie ou par laparotomie. Lorsque l'intervention est programmée dans le seul but de prélever un ovaire en vue de conservation, la voie cœlioscopique est privilégiée [19]. Le plus souvent, un ovaire entier est prélevé, quel que soit l'âge de la patiente, mais parfois seules des biopsies sont effectuées [20].

Transport du tissu ovarien et préparation du cortex ovarien

Dès son prélèvement, le tissu ovarien est acheminé dans un milieu de transport à la température de la glace jusqu'au laboratoire assurant sa congélation [21].

Avant la congélation proprement dite, la médullaire est retirée et le cortex ovarien est isolé et coupé en fragments. Chaque fragment est placé dans un cryotube contenant la solution de congélation composée d'un milieu de base, de cryoprotecteurs et de sérum de la patiente.

Congélation proprement dite

Le protocole le plus communément utilisé est celui décrit par Gosden qui a permis, après greffe du tissu ovarien congelé-décongelé, la naissance d'un agneau [22]. En résumé, il commence par une phase d'équilibration pour permettre au cryoprotecteur de pénétrer la totalité du tissu ovarien. Au bout de ce temps d'équilibration, les tubes sont placés dans un congélateur programmable. La descente en température est lente. L'induction de la cristallisation se fait manuellement

ou automatiquement et les tubes sont stockés dans l'azote liquide jusqu'à utilisation.

D'autres techniques peuvent être utilisées comme la vitrification. Elle est étudiée comme une alternative à la congélation lente pour les fragments de cortex ovarien. Il a été montré, dans l'espèce humaine, un taux de survie folliculaire équivalent, que les fragments aient été congelés par congélation lente ou par vitrification. Les auteurs en concluent que la vitrification de fragments d'ovaire est une technique efficace, simple et peu coûteuse [23].

Examen anatomopathologique

Un examen anatomopathologique est fait sur un fragment de cortex ovarien ainsi que sur la médullaire [24]. Ce contrôle histologique est indispensable bien que limité. Il permet d'effectuer un comptage et une classification des follicules présents et de détecter une éventuelle localisation secondaire de la pathologie dans les limites du fragment examiné.

Utilisations

Le but est d'obtenir des ovocytes matures à partir du cortex ovarien congelé. Deux techniques principales d'utilisation sont actuellement envisagées.

L'autogreffe de fragments ovariens

Cette technique présente l'avantage de restituer une sécrétion hormonale endogène en plus de la fertilité. Sa faisabilité a été établie, il y a plusieurs dizaines d'années chez les rongeurs [25], mais n'a été appliquée que plus récemment à un modèle plus proche des primates : la brebis [22].

Dans l'espèce humaine, des publications encore peu nombreuses rapportent les résultats des greffes de cortex ovarien. La première greffe a été publiée en 2000 par Oktay [26]. Il s'agissait d'une greffe orthotopique qui a permis d'obtenir, après stimulation de l'ovulation, un développement folliculaire et une sécrétion d'œstradiol. Ce premier résultat, bien que n'apportant pas la preuve qu'il soit possible de restaurer une fertilité, a permis de montrer que le protocole de congélation ovarienne utilisé par la plupart des équipes et qui avait permis de restaurer la fertilité chez la brebis, n'était pas totalement délétère dans l'espèce humaine. La même équipe, en 2004, décrit l'obtention d'embryons, après greffe hétérotopique. L'un d'eux a été transféré dans la cavité utérine de la patiente, sans succès en termes de grossesse [27]. C'est la première fois qu'il a été montré formellement que l'on pouvait

obtenir des ovocytes et des embryons, dans l'espèce humaine, après congélation-décongélation et autogreffe de cortex ovarien.

La naissance du premier enfant a été annoncée en octobre 2004 par l'équipe de Jacques Donnez, à la suite d'une greffe orthotopique [28]. Ce premier résultat a été l'occasion de nombreuses discussions autour de la provenance de l'ovocyte à l'origine de la grossesse [29].

En 2005, l'équipe de Meirou a publié la naissance d'un deuxième enfant [30], la troisième a été obtenue en 2007 par celle d'Isabelle Demeestere [31], et deux autres naissances viennent d'être publiées par l'équipe d'Andersen [32].

Au total, un peu plus d'une vingtaine de patientes ont bénéficié d'une greffe de cortex ovarien, greffes qui ont permis la naissance de 5 enfants en bonne santé (Tableau I).

Une des difficultés de la greffe de fragments de cortex ovarien est le temps de revascularisation des greffons, engendrant une perte folliculaire par ischémie. La solution serait la cryoconservation de l'ovaire entier avec son pédicule vasculaire. Plusieurs équipes travaillent sur cette approche dans l'espèce humaine par congélation lente, avec un taux de survie satisfaisant de 75,1 % après décongélation [43], ou chez la brebis par vitrification [44].

Le risque majeur de la greffe de fragments ovariens est, en cas de pathologies malignes diffuses, le risque de réintroduction de la maladie initiale par le biais de cellules tumorales présentes dans les fragments ovariens [45]. Les pathologies ont été classées selon le risque de la présence d'une localisation ovarienne de la pathologie [46]. Le tableau II résumant ces pathologies indique que le risque est faible pour les cancers du sein (stades I à III) et canalaire infiltrant, par contre ce risque est intermédiaire pour les cancers du sein au stade IV et les lobulaires infiltrants.

En conséquence, cette solution ne sera pas envisageable pour toutes les patientes, d'où l'intérêt de développer d'autres méthodes d'utilisation.

Croissance folliculaire in vitro

Cette approche consiste à effectuer une maturation folliculaire et ovocytaire in vitro afin d'obtenir des ovocytes matures capables d'être fécondés et d'être à l'origine d'un développement embryonnaire complet. Elle devrait offrir de nombreux avantages. Surtout elle permettrait d'éviter de transférer à la patiente guérie des tissus ou des cellules somatiques potentiellement à risque.

Les travaux sur la folliculogénèse in vitro dans l'espèce humaine ne sont pas très nombreux. Après congélation, seuls les stades primordiaux

Tableau I : Tableau résumant les différentes publications, rapportant des greffes de cortex ovarien chez la femme

Auteurs (année)	Âge patiente au moment du prélèvement d'ovaire	Pathologie au moment de la cryoconservation d'ovaire	Localisation de la greffe	Résultats
Oktay K (2000) [26]	29 ans	Ménométrorragie	Fossette ovarienne	Développement folliculaire et sécrétion d'œstradiol après stimulation de l'ovulation
Radford J (2001) [33]	36 ans	Maladie de Hodgkin	Reste d'ovaire	Restauration fonction ovarienne
Callejo J (2001) [34]	47 ans	Périménopause	Paroi abdominale (PA)	Restauration fonction endocrine de l'ovaire
Oktay K (2004) [27]	30 ans	Cancer du sein	Sous la peau de la PA	Obtention d'un embryon
Tryde Schmidt KL (2004) [35]	32 ans	Maladie de Hodgkin	Reste d'ovaire	Restauration de la fonction ovarienne Obtention d'un ovocyte en métaphase II
Donnez J (2004) [28]	25 ans	Maladie de Hodgkin, stade IV	Reste d'ovaire	Premier enfant né
Kim S (2004) [36]	37 ans	Cancer du col de l'utérus, stade Ib	Gaines musculaires (pectoral, droit)	Restauration fonction ovarienne
Meirow D (2005) [30]	28 ans	Lymphome non hodgkinien	Reste d'ovaire	Un enfant
Schmidt KL (2005) [37]	28 ans 25 ans 32 ans	Maladie de Hodgkin Maladie de Hodgkin Lymphome non hodgkinien	Ovaire et PA Ovaire et PA Ovaire	Restauration fonction ovarienne Un embryon Un embryon
Wolner-Hanssen P (2005) [38]	30 ans	Aplasia médullaire	Avant bras	Développement folliculaire après stimulation
Donnez J (2006) [39]	21 ans	Drépanocytose SS	Ovaire et péritoine proche de l'ovaire	Restauration de la fonction ovarienne
Demeestere I (2006) [40]	24 ans	Maladie de Hodgkin	Péritoine et PA	Fausse couche spontanée (9 SA)
Rosendhal M (2006) [41]	28 ans	Maladie de Hodgkin	Ovaire, péritoine, PA	Grossesse biochimique après transfert embryons venant de la localisation hétérotopique

PRÉSERVATION DE LA FERTILITÉ DES PATIENTES PRÉSENTANT UN CANCER DU SEIN

Auteurs (année)	Âge patiente au moment du prélèvement d'ovaire	Pathologie au moment de la cryoconservation d'ovaire	Localisation de la greffe	Résultats
Demeestere J* (2007) [31]	24 ans	Maladie de Hodgkin	Ovaire et PA	Grossesse spontanée : petite fille
Donnez J** (2008) [42]	22 ans	Maladie de Hodgkin	Ovaire	Restauration des cycles et obtention ovocytes
	28 ans	Lymphome non hodgkinien	Ovaire	Restauration des cycles
	22 ans	Maladie de Wegener	Ovaire	Restauration des cycles
Andersen CY*** (2008) [32]	26 ans	Maladie de Hodgkin	Ovaire	Un enfant
	27 ans	Sarcome d'Ewing	Ovaire	Un enfant
	36 ans	Cancer du sein	Ovaire	Restauration activité du tissu ovarien
	25 ans (a)	Maladie de Hodgkin	Ovaire et PA	

* Même patiente que celle de la publication de 2006, ** 5 greffes dont 3 nouvelles patientes, seules ces dernières sont reprises dans le tableau, *** 6 patientes dont 3 nouvelles, seules ces dernières sont reprises ainsi qu'une ancienne (a) ayant bénéficié d'une double greffe

Tableau II : Risque de métastases ovariennes selon les pathologies, d'après Sonmezer et al. [47]

Pathologies à risque faible de métastases ovariennes	Carcinome épidermoïde du col Sarcome d'Ewing Cancer du sein (stades I à III) et canalaire infiltrant Tumeur de Wilms Lymphome non hodgkinien Maladie de Hodgkin Sarcome osseux Rhabdomyosarcome non génital
Pathologies à risque intermédiaire de métastases ovariennes	Cancer du sein (stade IV) et lobulaire infiltrant Cancer du côlon Adénocarcinome du col
Pathologies à risque important de métastases ovariennes	Leucémies Lymphome de Burkitt Neuroblastome Rhabdomyosarcome génital

et primaires survivent, il est donc impératif de développer des systèmes de culture assurant toute la folliculogénèse.

Dans l'espèce humaine, la culture de tous les stades folliculaires est possible *in vitro* avec une bonne survie folliculaire et obtention du stade folliculaire suivant. En effet, la culture sur membrane de fragments ovariens permet d'assurer le passage du stade primordial au stade primaire [47]. Avec la même technique, il est possible d'obtenir des follicules préantraux, que ce soit à partir d'ovaires adultes ou fœtaux [48, 49]. Des follicules préantraux isolés ont pu être aussi cultivés, et la formation d'un antrum a été décrite [50]. Enfin, la maturation des complexes cumulo-ovocytaires de petits follicules antraux a permis d'obtenir des ovocytes matures dans l'espèce humaine et des naissances [51].

Les études sur les cultures folliculaires après congélation-décongélation sont peu nombreuses [52], mais les plus récentes montrent des résultats positifs en termes de survie folliculaire après culture prolongée [53].

Actuellement, avec ces techniques, il a été obtenu des ovocytes matures et des naissances seulement dans le modèle murin [54].

CONCLUSION

Les techniques de préservation de la fertilité existent et doivent être proposées aux patientes devant subir des traitements gonadotoxiques.

Dans le cadre des cancers du sein, l'hormonosensibilité de la tumeur et le délai de mise en place rendent la congélation d'embryons et la cryoconservation des ovocytes matures difficiles à gérer.

Pour la cryoconservation de cortex ovarien, bien que des avancées très importantes dans le domaine des utilisations aient été faites, la décision de prélever du tissu ovarien est souvent difficile. Elle doit être prise de manière réfléchie et pluridisciplinaire. En effet, ne pas faire de cryoconservation de cortex ovarien en cas de traitement stérilisant pourrait être préjudiciable pour la patiente mais à l'inverse, faire une ovariectomie partielle ou totale chez une patiente alors que son traitement ne serait pas stérilisant, pourrait l'être tout autant.

Il est en conséquence très important d'adapter les techniques au risque d'infertilité et de ne pas être plus délétère avec les techniques de préservation de fertilité qu'avec les traitements.

Résumé

Dans le cancer du sein, l'administration de traitements adjuvants a permis d'augmenter la survie des patientes, mais ils ont des effets secondaires à plus ou moins long terme, notamment sur la fertilité. Ces effets sont liés principalement au type de molécules utilisées, à leur dose totale et à l'âge des patientes. Afin de pallier l'altération de la fonction ovarienne, plusieurs techniques de préservation de la fertilité féminine existent. Il est possible de proposer un traitement par analogues du GnRH, une cryoconservation d'embryons et/ou d'ovocytes matures et/ou de cortex ovarien. Pour au moins deux d'entre elles (cryoconservation d'ovocytes matures et de cortex ovarien), il s'agit de techniques récentes avec des résultats encore modestes en termes de taux de grossesses. Le choix de la ou des techniques envisagées doit se prendre de manière pluridisciplinaire et dépend du type de traitement, des doses et de sa durée, mais aussi de l'âge de la patiente, de son statut marital, de l'urgence de son traitement anticancéreux et de l'hormono-sensibilité de la tumeur.

Il est donc important de bien évaluer la balance bénéfice-risque pour ne pas faire courir aux patientes des risques liés aux méthodes de préservation de fertilité supérieurs au risque sur la fonction ovarienne des traitements chimiothérapeutiques.

Mots clés : fertilité, cryoconservation ovarienne, cryoconservation embryonnaire, cryoconservation d'ovocytes matures, cancer du sein

Bibliographie

- [1] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of randomised trials. *The Lancet* 2005;365:1687-1717.
- [2] Koyama H, Wada T, Nishizama Y, Iwanaga T, Aoki Y. Cyclophosphamide-induced ovarian failure and its therapeutic significance in patients with breast cancer. *Cancer* 1977;39:1403-9.
- [3] Gerber B, Dieterich M, Müller H, Reimer T. Controversies in preservation of ovary function and fertility in patients with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2008;108:1-7.
- [4] Meirow D. Reproduction post-chemotherapy in young cancer patients. *Mol Cell Endocrinol* 2000;169:123-131.
- [5] Del Mastro L, Catzeddu T, Boni L, Bell, Sertoli MR, Bighin C, Clavarezza M, Testa D, Venturini M. Prevention of chemotherapy-induced menopause by temporary ovarian suppression with goserelin in young, early breast cancer patients. *Annals of Oncology* 2006;17:74-78.
- [6] Urruticoechea A, Arnedos M, Walsh G, Dowsett M, Smith IE. Ovarian protection with goserelin during adjuvant chemotherapy for premenopausal women with early breast cancer (EBC). *Breast Cancer Res Treat* 2008;110:411-416.
- [7] Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 1983;305:707-9.
- [8] Oktay K, Buyuk E, Libertella N, Akar M, Rosenwaks Z. Fertility preservation in breast cancer patients : a prospective controlled comparison of ovarian stimulation with tamoxifen and letrazole for embryo cryopreservation. *J Clin Oncol* 2005;23:4347-4353.
- [9] Andersen RA, Kinniburgh D, Baird DT. Preliminary experience of the use of a gonadotrophin-releasing hormone antagonist in ovulation induction/in-vitro fertilization prior to cancer treatment. *Hum Reprod* 1999;14:2665-2668.
- [10] Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet* 1986;1:884-6.
- [11] Hasani S, Diedrich K, van der Ven H, Reinecke A, Hartje M, Krebs D. Cryopreservation of human oocytes. *Hum Reprod* 1987;2:695-700.
- [12] Porcu E, Fabbri R, Seracchioli R, Ciotti PM, Magrini O, Flamigni C. Birth of a healthy female after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved human oocytes. *Fertil Steril* 1997; 68:724-6.
- [13] Fabbri R, Porcu E, Marsella T, Rocchetta G, Venturoli S, Flamigni C. Human oocyte cryopreservation: new perspectives regarding oocyte survival. *Human Reprod* 2001;16:411-6.
- [14] Young E, Kenny A, Puigdomenech E, Van Thillo G, Tiveron M, Piazza A. Triplet pregnancy after intracytoplasmic sperm injection of cryopreserved oocytes: case report. *Fertil Steril* 1998;70:360-1.
- [15] Yoon TK, Lee DR, Cha SK, Chung HM, Lee WS, Cha KY. Survival rate of human oocytes and pregnancy outcome after vitrification using slush nitrogen in assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 2007;88:952-6.
- [16] Oktay K, Cil AP, Bang H. Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis. Efficiency of oocyte cryopreservation: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2006;86:70-80.
- [17] Aubard Y, Poirot C, Piver P, Galinat S, Teissier MP. Are there indications for ovarian tissue cryopreservation ? *Fertil Steril* 2001;76:414-5.
- [18] Huang JY, Tulandi T, Holzer H, Lau NM, Macdonald S, Tan SL, Chain RC.. Cryopreservation of ovarian tissue and in vitro matured oocytes in a female with mosaic Turner syndrome: Case Report. *Hum Reprod* 2008;23:336-9.
- [19] Courbiere B, Agostini A, Cravello M, Gannerre M. Comment je fais....pour réaliser une ovariectomie pour cryoconservation ovarienne en vue d'une autogreffe orthotopique de cortex ovarien. *Gynecol Obstet Fertil* 2007;35:684-685.
- [20] Meirow D, Fasouliotis SJ, Nugent D, Schenker JG, Gosden RG, Rutherford AJ. A laparoscopic technique for obtaining ovarian cortical biopsy specimens for fertility conservation in patients with cancer. *Fertil Steril* 1999;71:948-51.
- [21] Schmidt KL, Ernst E, Byskov AG, Nyboe Andersen A, Yding Andersen C. Survival of primordial follicles following prolonged transportation of ovarian tissue prior to cryopreservation. *Hum Reprod* 2003;18:2654-9.
- [22] Gosden RG, Baird DT, Wade JC, Webb R. Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196 degrees C.

Hum Reprod 1994;9:597-603.

[23] Li YB, Zhou CQ, Yang GF, Wang Q, Dong Y. Modified vitrification method for cryopreservation of human ovarian tissues. *Chin Med J* 2007;120:110-4.

[24] Poirot C, Vacher-Lavenu MC, Helardot P, Guibert J, Brugieres L, Jouannet P. Human ovarian tissue cryopreservation: indications and feasibility. *Hum Reprod* 2002;17:1447-52.

[25] Parrott DM. The effect of site of implantation on host reaction. *Immunology* 1960;3:244-53.

[26] Oktay K, Karlikaya G. Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. *N Engl J Med* 2000;342:1919.

[27] Oktay K, Buyuk E, Vecek L, Zaninovic N, Xu K, Takeuchi T, Opsahl M, Rosenwaks Z. Embryo development after heterotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004; 363:837-40.

[28] Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Martinez-Madrid B, van Langendonck A. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet* 2004;364:1405-10.

[29] Oktay K, Tilly J. Livebirth after cryopreserved ovarian tissue autotransplantation. *Lancet* 2004;364:2091-2.

[30] Meirou D, Levron J, Eldar-Geva T, Hardan I, Fridman E, Zalel Y, Schiff E, Dor J. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N Engl J Med* 2005;353:318-21.

[31] Demeestere I, Simon P, Emiliani S, Delbaere A, Englert Y. Fertility preservation: successful transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a young patient previously treated for Hodgkin's disease. *Oncologist* 2007;12:1437-42.

[32] Andersen CY, Rosendahl M, Byskov AG, Loft A, Ottosen C, Dueholm M, Schmidt KL, Nyboe Andersen A, Ernst E. Two successful pregnancies following autotransplantation of frozen/thawed ovarian tissue. *Hum Reprod* 2008 Oct;23(10):2266-72. Epub 2008 Jul 3.

[33] Radford JA, Lieberman BA, Brison DR, Smith AR, Critchlow JD, Russell SA, Watson AJ, Clayton JA, Harris M, Gosden RG, Shallet SM. Orthotopic reimplantation of cryopreserved ovarian cortical strips after high-dose chemotherapy for Hodgkin's lymphoma. *Lancet* 2001;14:1172-5.

[34] Callejo J, Salvador C, Miralles A, Vilaseca S, Lailla JM, Balasch J. Long-term ovarian function evaluation after autografting by implantation

with fresh and frozen-thawed human ovarian tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4489-94.

[35] Schmidt KL, Andersen CY, Starup J, Loft A, Byskov AG, Andersen AN. Orthotopic autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue to a woman cured of cancer-follicular growth, steroid production and oocyte retrieval. *Reprod Biomed Online* 2004;8:448-53.

[36] Kim SS, Hwang IT, Lee HC. Heterotopic autotransplantation of cryobanked human ovarian tissue as a strategy to restore ovarian function. *Fertil Steril* 2004;82:930-2.

[37] Schmidt KL, Andersen CY, Loft A, Byskov AG, Ernst E, Andersen AN. Follow-up of ovarian function post-chemotherapy following ovarian cryopreservation and transplantation. *Hum Reprod* 2005;20:3539-46.

[38] Wolner-Hanssen P, Häggglund L, Ploman F, Ramirez A, Manthorpe R, Thuring A. Autotransplantation of cryopreserved ovarian tissue to right forearm 4(1/2) years after autologous stem cell transplantation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005;84:695-8.

[39] Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, Jadoul P, Pirard C, Squifflet J, Martinez-Madrid B, Van Langendonck A. Restoration of ovarian function after orthotopic (intraovarian and periovarian) transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a woman treated by bone marrow transplantation for sickle cell anemia: case report. *Hum Reprod* 2006;21:183-8.

[40] Demeestere I, Simon P, Buxant F, Robin V, Fernandez SA, Centner J, Delbaere A, Englert Y. Ovarian function and spontaneous pregnancy after combined heterotopic and orthotopic cryopreserved ovarian tissue transplantation in a patient previously treated with bone marrow transplantation: case report. *Hum Reprod* 2006; 21:2010-4.

[41] Rosendahl M, Loft A, Byskov AG, Ziebe S, Schmidt KT, Andersen AN, Ottosen C, Andersen CY. Biochemical pregnancy after fertilization of an oocyte aspirated from a heterotopic autotransplant of cryopreserved ovarian tissue: case report. *Hum Reprod* 2006;21:2006-9.

[42] Donnez J, Squifflet J, Van Ayck AS, Demylle D, Jadoul P, Van Langendonck, Dolmans MM. Restoration of ovarian function in orthotopically transplanted cryopreserved ovarian tissue : a pilot experience. *Reprod Biomed Online* 2008; 16:694-704.

[43] Martinez-Madrid B, Dolmans MM,

Van Langendonck A, Defrere S, Donnez J. Freezing intact human ovary with its vascular pedicle with a passive cooling device. *Fertil Steril* 2004;82:1390-4.

[44] Courbiere B, Caquant L, Mazoyer C, Franck M, Lornage J, Salle B. Difficulties improving ovarian functional recovery by microvascular transplantation and whole ovary vitrification. *Fertil Steril* 2008;26.

[45] Shaw JM, Bowles J, Koopman P, Wood EC, Trounson AO. Fresh and cryopreserved ovarian tissue samples from donors with lymphoma transmit the cancer to graft recipients. *Hum Reprod* 1996;11:1668-73.

[46] Sonmezer M, Shamonki MI, Oktay K. Ovarian tissue cryopreservation: benefits and risks. *Cell Tissue Res* 2006;322:125-32.

[47] Hovatta O, Silye R, Abir R, Krausz T, Winston RM. Extracellular matrix improves survival of both stored and fresh human primordial and primary ovarian follicles in long-term culture. *Hum Reprod* 1997;12:1032-6.

[48] Wright CS, Hovatta O, Margara R, Trew G, Winston RM, Franks S, Hardy K. Effects of follicle-stimulating hormone and serum substitution on the in-vitro growth of human ovarian follicles. *Hum Reprod* 1999 ; 14 : 1555-62.

[49] Zhang J, Liu J, Xu KP, Liu B, Di Mattina M. Extracorporeal development and ultrarapid freezing of human fetal ova. *J Assist Reprod Gent* 1995;12:361-368.

[50] Abir R, Franks S, Mobberley MA, Moore PA, Margara RA, Winston RM. Mechanical isolation and in vitro growth of preantral and small antral human follicles. *Fertil Steril* 1997; 68:682-88.

[51] Chian RC. In-vitro maturation of immature oocytes for infertile women with PCOS. *Reprod Biomed Online* 2004;8:547-52.

[52] Hovatta O. Cryopreservation and culture of human ovarian cortical tissue containing early follicles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;5:113 Suppl 1.

[53] Fabbri R, Pasquinelli G, Montanaro L, Mozzanega B, Magnani V, Tamburini F, Venturoli S, Keane D. Healthy early preantral follicle can be obtained in a culture of frozen-thawed human ovarian tissue of 32 weeks. *Ultrastruct Pathol* 2007;31:247-62.

[54] O'Brien MJ, Pendola JK, Eppig JJ. A revised protocol for in vitro development of mouse oocytes from primordial follicles dramatically improves their developmental competence. *Biol Reprod* 2003;68:1682-6.